

1421 灭菌法

本通则介绍的常用灭菌方法，可用于制剂、原料、辅料、医疗器械、药品包装材料以及设备表面等物品的灭菌，从而使物品残存活微生物的概率下降至预期水平。

灭菌 (sterilization) 法系指用适当的物理或化学手段将物品中活的微生物杀灭或除去的过程。从而使物品残存活微生物的概率下降至预期的无菌保证水平的方法。本法适用于制剂、原料、辅料及医疗器械等物品的灭菌。无菌物品是指物品中不含任何活的微生物，但对于任何一批灭菌物品而言，绝对无菌既无法保证也无法用试验来证实。一批物品的无菌特性只能相对地通过物品中活微生物的概率低至某个可接受的水平来表述，即无菌保证水平 (sterility assurance level, 简称 SAL)。实际生产过程中，灭菌是指将物品中污染微生物的概率下降至预期的无菌保证水平。最终灭菌的物品微生物存活概率，即无菌保证水平不得高于 10^{-6} 。已灭菌物品达到的无菌保证水平可通过验证确定。即非无菌概率 (Probability of a Nonsterile Unit, 简称 PNSU) 或，以达到预期的无菌保证水平 (sterility assurance level, 简称 SAL)。最终灭菌物品的非无菌概率不得高于 10^{-6} 。已灭菌物品达到的非无菌概率可通过验证确定。

灭菌物品的无菌保证不能依赖于最终产品的无菌检验，而是取决于生产过程中采用合格经过验证的灭菌工艺、严格的 GMP 管理和良好的无菌保证体系。灭菌工艺的确定应综合考虑被灭菌物品的性质、灭菌方法的有效性和经济性、灭菌后物品的完整性和稳定性等因素。

无菌药品的生产分为最终灭菌工艺和无菌生产工艺。经最终灭菌工艺处理的灭菌物品的非无菌概率不得高于 10^{-6} 。灭菌工艺控制涉及包含灭菌工艺的开发、灭菌工艺的验证和日常监控等内容阶段。

灭菌工艺的开发

灭菌工艺的开发应综合考虑被灭菌物品的性质、灭菌方法的有效性、灭菌后物品的完整性和稳定性，并兼顾经济性等因素。只要物品允许，应尽可能选用最终灭菌法灭菌。若物品不适合采用最终灭菌法，应可选用无菌生产工艺达到无菌保证要求。

综合考虑灭菌工艺的灭菌能力和对灭菌物品的影响，灭菌工艺可以分为过

度杀灭法、生物负载/生物指示剂（也被称为残存概率法）和生物负载法。对只要耐受的灭菌物品耐受，通常选用应首选过度杀灭法。

物品的无菌保证与灭菌工艺、灭菌前物品的生物负载相关。生物负载系指灭菌前微生物污染水平，即物品灭菌前的微生物数量及其对灭菌工艺的耐受性物品表面或内部的所有活微生物。灭菌工艺的开发时，需要对物品污染的微生物种类、数目及其耐受性进行综合评估。

灭菌工艺的验证

灭菌程序的验证是无菌保证的必要条件。灭菌程序经验证后，方可交付正式使用。验证内容包括：（1）撰写验证方案及制定评估标准；（2）确认设备的设计与选型；（23）确认灭菌设备技术资料齐全、安装正确，并能处于正常运行（安装确认）；（34）确认灭菌设备、关键控制和记录系统能在规定的参数范围内正常运行（运行确认）；（45）采用被灭菌物品或模拟物品按预定灭菌程序进行重复试验，确认各关键工艺参数符合预定标准，确定经灭菌物品的无菌保证水平符合规定（性能确认）；（6）汇总并完善各种文件和记录，撰写验证报告。

灭菌工艺的日常监控

日常生产中，应对灭菌程序的运行情况进行监控，确认关键参数(如温度、压力、时间、湿度、灭菌气体浓度及吸收的辐照剂量等)均在验证确定的范围内。同时应持续评估灭菌工艺的有效性、被灭菌物品的安全性和稳定性，并建立相应的变更和偏差控制程序，确保灭菌工艺持续处于受控状态。灭菌程序应定期进行再验证。当灭菌设备或程序发生变更（包括灭菌物品装载方式和数量的改变）时，应进行重新验证。

验证及日常监控阶段，可根据风险评估的结果实际情况选择性的对微生物的种类、数目及耐受性进行监控。

~~物品的无菌保证与灭菌工艺、灭菌前物品被污染的程度及污染菌的特性相关。因此，应根据灭菌工艺的特点制定灭菌物品灭菌前的微生物污染水平及污染菌的耐受限度并进行监控，并在生产的各个环节采取各种措施降低污染，确保微生物污染控制在规定的限度内。~~

在生产的各个环节应采取各种措施降低生物负载，确保生物负载控制在规定的限度内。灭菌结束后，~~灭菌的冷却阶段~~，应采取措施防止已灭菌物品被再次

污染。任何情况下，都应要求容器及其密封系统确保物品在有效期内符合无菌要求。

灭菌方法

常用的灭菌方法有湿热灭菌法、干热灭菌法、辐射灭菌法、气体灭菌法、和过滤除菌法、汽相灭菌法、液相灭菌法。可根据被灭菌物品的特性采用一种或多种方法组合灭菌。只要物品允许，应尽可能选用最终灭菌法灭菌。若物品不适合采用最终灭菌法，可选用过滤除菌法或无菌生产工艺达到无菌保证要求，只要可能，应对非最终灭菌的物品作补充性灭菌处理（如流通蒸汽灭菌）。

一、湿热灭菌法

本法系指将物品置于灭菌设备柜内利用高压饱和蒸汽、蒸汽-空气混合物、蒸汽-空气-水混合物、过热水喷淋等手段使微生物菌体中的蛋白质、核酸发生变性而杀灭微生物的方法。该法灭菌能力强，为热力灭菌中最有效、应用最广泛的灭菌方法。药品、容器、培养基、无菌衣、胶塞以及其他遇高温和潮湿不发生变化或损坏性能稳定的物品，均可采用本法灭菌。流通蒸汽不能有效杀灭细菌孢子，一般可作为不耐热无菌产品的辅助处理灭菌手段。

湿热灭菌条件的选择工艺的开发应考虑被灭菌物品的热稳定性、热穿透性力、微生物污染程度生物负载等因素。湿热灭菌条件通常采用 $120^{\circ}\text{C} \times 15\text{min}$ 、 $121^{\circ}\text{C} \times 30\text{min}$ 或 $116^{\circ}\text{C} \times 40\text{min}$ 的程序，也可采用其他温度和时间参数通常采用标准温度-时间参数或者结合 F_0 值（ F_0 值为标准灭菌时间，系灭菌过程赋予被灭菌物品 121°C 下的等效灭菌时间）综合考虑，但无论采用何种灭菌温度和时间控制参数，都必须证明所采用的灭菌工艺和监控措施在日常运行过程中能确保物品灭菌后的 $\text{PNSU} \leq 10^{-6}$ $\text{SAL} < 10^{-6}$ 。当灭菌程序的选定采用 F_0 值概念时（ F_0 值为标准灭菌时间，系灭菌过程赋予被灭菌物品 121°C 下的灭菌时间），应采取特别措施确保被灭菌物品能得到足够的无菌保证，此时，除对灭菌程序进行验证外，还必须在生产过程中对微生物进行监控，证明污染的微生物指标低于设定的限度。对热稳定的物品，灭菌工艺可首选过度杀灭法，以保证被灭菌物品获得足够的无菌保证值。热不稳定性物品，其灭菌工艺的确定依赖于在一定的时间内，一定的生产批次的被灭菌物品灭菌前微生物污染的水平及其耐热性。因此，日常生产全过程应对产

品中污染的微生物进行连续地、严格地监控，并采取各种措施降低物品微生物污染水平，特别是防止耐热菌的污染。热不稳定性物品的 F_0 值一般不低于8分钟。多孔或坚硬物品等可采用饱和蒸汽直接接触的方式进行灭菌，灭菌过程中应充分去除腔体和待灭菌物品中包裹的空气和冷凝水，以避免残留空气阻止蒸汽到达所有暴露的表面，从而破坏饱和蒸汽的温度-压力关系。对装有液体的密闭容器进行灭菌，灭菌介质先将热传递到容器表面，再通过传导和对流的方式来实现内部液体的灭菌，必要时可采用空气过压的方式平衡容器内部和灭菌设备腔体之间的压差，避免影响容器的密闭完整性。

采用湿热灭菌时，被灭菌物品应有适当的装载方式，不能排列过密，以保证灭菌的有效性和均匀性。装载方式的确认应考虑被灭菌物品最大、最小和生产过程中典型的装载量和排列方式等，确保灭菌的有效性和重现性。装载热分布试验应尽可能使用被灭菌物品，如果采用类似物替代，应结合物品的热力学性质等进行适当的风险评估。热穿透试验应将足够数量的温度探头置于被灭菌物品内部的冷点。如有数据支持或有证据表明将探头置于物品外部也能反映出物品的热穿透情况，也可以考虑将探头置于物品外部。

湿热灭菌法应确认灭菌柜在不同装载时可能存在的冷点。当用生物指示剂进一步确认灭菌效果时，应将其置于冷点处。本法常用的生物指示剂为嗜热脂肪芽孢杆菌孢子(Spores of *Bacillus stearothermophilus*)。微生物挑战试验用来进一步确认灭菌效果，生物指示剂的放置位置应结合被灭菌物品的特点、装载热分布以及热穿透试验结果来确定。应根据灭菌工艺选择适宜的生物指示剂。过度杀灭法常用的生物指示剂为嗜热脂肪地芽孢杆菌(*Geobacillus stearothermophilus*)的芽孢，热不稳定性物品灭菌常用的生物指示剂为生孢梭菌(*Clostridium sporogenes*)，枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)和凝结芽孢杆菌(*Bacillus coagulans*)。

对于热不稳定性物品采用生物负载/生物指示剂法和生物负载法的灭菌工艺，日常生产全过程应对物品中污染的微生物进行连续地、严格地监控，并采取各种措施降低微生物污染水平，特别是防止耐热菌的污染。

湿热灭菌在冷却阶段应采取措施防止已灭菌物品被再次污染。

二、干热灭菌法

本法系指将物品置于干热灭菌柜、隧道灭菌器等设备中，利用干热空气达到杀灭微生物或消除热原物质的方法。适用于耐高温但不宜用湿热灭菌法灭菌的物品灭菌，如玻璃器具、金属制容器、纤维制品、陶瓷制品、固体试药、液状石蜡等均可采用本法灭菌。

干热灭菌法的工艺开发应考虑被灭菌物品的热稳定性、热穿透力、生物负载（或内毒素污染水平）等因素。干热灭菌条件一般为 $(160\sim 170^{\circ}\text{C})\times 120\text{min}$ 以上、 $(170\sim 180^{\circ}\text{C})\times 60\text{min}$ 以上或 $250^{\circ}\text{C}\times 45\text{min}$ 以上，也可采用其他温度和时间参数采用温度-时间参数或者结合 F_H 值（ F_H 值为标准灭菌时间，系灭菌过程赋予被灭菌物品 160°C 下的等效灭菌时间）综合考虑。干热灭菌温度范围一般为 $160^{\circ}\text{C}\sim 190^{\circ}\text{C}$ ，当用于除热原时，温度范围一般为 $170^{\circ}\text{C}\sim 400^{\circ}\text{C}$ ，无论采用何种灭菌条件，均应保证灭菌后的物品的 $\text{SAL}\leq \text{PNSU}\leq 10^{-6}$ 。

采用干热过度杀灭后的物品一般无需进行灭菌前污染微生物的测定。 $250^{\circ}\text{C}\times 45\text{min}$ 的干热灭菌也可除去无菌产品包装容器及有关生产灌装用具中的热原物质。

采用干热灭菌时，被灭菌物品应有适当的装载方式，不能排列过密，以保证灭菌的有效性和均一性。干热灭菌法应确认灭菌柜中的温度分布符合设定的标准及确定最冷点位置等。常用的生物指示剂为枯草芽孢杆菌孢子（*Spores of Bacillus subtilis*）装载方式的确认应考虑被灭菌物品最大和最小的装载量和排列方式等，对于连续干热灭菌设备还应考虑传送带运转时不同位置可能产生的温度差异，同时应关注热力难以以及那些热力难手穿透的物品，以保证灭菌的有效性和重现性。由于空气热导性较差，应通过热分布和热穿透试验确认冷点能够达到预期的灭菌效果。微生物挑战试验用生物指示剂通常选择萎缩芽孢杆菌（*Bacillus astrophaeus*）枯草芽孢杆菌（*Bacillus subtilis*）。细菌内毒素灭活验证试验是证明除热原过程有效性的试验。一般将不小于1000单位的细菌内毒素加入待去热原的物品中，证明该去热原工艺能使内毒素至少下降3个对数单位。细菌内毒素灭活验证试验所用的细菌内毒素一般为大肠埃希菌内毒素（*Escherichia coli* endotoxin）。

灭菌设备内的空气应当循环并保持正压。进入干热灭菌生产设备的空气应

当经过高效过滤器过滤，高效过滤器应定期进行检漏测试以确认其完整性。

三、辐射灭菌法

本法系指将物品置于适宜放射源辐射的 γ 射线或适宜的电子加速器发生的电子束中进行电离辐射而达到杀灭微生物的方法。本法最常用的为 ^{60}Co γ 射线辐射灭菌利用电离辐射杀灭微生物的方法。常用的辐射射线有 ^{60}Co 或 $^{137}\text{SeCs}$ 衰变产生的 γ 射线、电子加速器产生的电子束和 X 射线装置产生的 X 射线。能够耐辐射的医疗器械、容器、生产辅助用品、药品包装材料不受辐射破坏的、原料药及成品等均可用本法灭菌。

辐射灭菌工艺的开发应考虑被灭菌物品对电离辐射的耐受性以及生物负载等因素。为保证灭菌过程不影响被灭菌物品的安全性、有效性及稳定性，应确定最大可接受剂量。采用辐射灭菌法灭菌的无菌物品其 SAL 应 $\leq 10^{-6}$ 。 γ 射线辐射灭菌所控制的参数主要是辐射剂量（指灭菌物品的吸收剂量），灭菌剂量的建立应确保物品灭菌后的 PNSU $\leq 10^{-6}$ 。对最终产品、原料药、某些医疗器材辐射灭菌应尽可能采用低辐射剂量灭菌。该剂量的制定应考虑灭菌物品的适应性及可能污染的微生物最大数量及最强抗辐射力，事先应验证所使用的剂量不影响被灭菌物品的安全性、有效性及稳定性。常用的辐射灭菌吸收剂量为 25kGy。灭菌前，应对被灭菌物品微生物污染的数量和抗辐射强度进行测定，以评价灭菌过程赋予该灭菌物品的无菌保证水平。对于已设定的剂量，应定期审核，以验证其有效性。

辐射灭菌验证的关键在剂量分布测试，在开展剂量分布测试前，应规定灭菌物品的包装形式、密度以及装载模式等。通过剂量分布测试，确定灭菌过程的最大和最小剂量值及其位置，如果日常监测使用参照计量位置，还需确定其剂量值与最大和最小剂量值之间的关系。辐射灭菌一般不采用生物指示剂进行微生物挑战试验。

日常使用中，应进行生物负载监控和定期剂量审核，确保辐射灭菌效果及剂量的持续有效。灭菌时，应采用适当的化学或物理方法剂量计对灭菌物品吸收的辐射剂量进行监控，剂量计放置的位置应经验证确定，以充分证实灭菌物品吸收的剂量是在规定的限度内。如采用与灭菌物品一起被辐射的放射性剂量计，剂量计要置于规定的部位。在初安装时剂量计应用标准源进行校正，并定期进行再校正。剂量测量应溯源到国家标准或是国际标准。

~~⁶⁰Co- γ 射线辐射灭菌法常用的生物指示剂为短小芽孢杆菌孢子 (Spores of *Bacillus pumilus*)。~~

四、~~气体~~灭菌法

本法系指用化学~~灭菌剂消毒剂~~形成的气体杀灭微生物的方法。~~本法中常用的化学消毒剂有环氧乙烷、气态过氧化氢、甲醛、臭氧 (O₃) 等，本法适用于在气体中稳定的物品灭菌。采用气体灭菌法时，应注意灭菌气体的可燃可爆性、致畸性和残留毒性。~~本法中最常用的~~气体化学~~灭菌剂消毒剂是环氧乙烷，一般与 80%~90% 的惰性气体混合使用，在充有灭菌气体的高压腔室内进行。~~采用气体灭菌法时，应注意灭菌气体的可燃可爆性、致畸性和残留毒性。该法可用于医疗器械、塑料制品等不能采用高温灭菌的物品灭菌。含氯的物品及能吸附环氧乙烷的物品则不宜使用本法灭菌。该法适用于不耐高温、不耐辐射物品的灭菌，如医疗器械、塑料制品和药品包装材料等，干粉类产品不建议采用本法灭菌。~~

采用本法灭菌需确认经过解析工艺后，灭菌气体和反应产物残留量不会影响被灭菌物品的安全性、有效性和稳定性。采用环氧乙烷灭菌时，~~灭菌柜腔室~~内的温度、湿度、灭菌气体浓度、灭菌时间是影响灭菌效果的重要因素。

~~可采用下列灭菌条件：~~

~~温度 54°C \pm 10 摄氏度~~

~~相对湿度 60% \pm 10%~~

~~灭菌压力 8 \times 105Pa~~

~~灭菌时间 90min~~

~~灭菌条件应予验证。灭菌时，将灭菌腔室抽成真空，然后通入蒸汽使腔室内达到设定的温湿度平衡的额定值，再通入经过滤和预热的环氧乙烷气体。灭菌过程中，应严密监控腔室的温度、湿度、压力、环氧乙烷浓度及灭菌时间。必要时使用生物指示剂监控灭菌效果。本法灭菌程序的控制具有一定难度，整个灭菌过程应在技术熟练人员的监督下进行。灭菌后，应采取新鲜空气置换，使残留环氧乙烷和其他易挥发性残留物消散。并对灭菌物品中的环氧乙烷残留物和反应产物进行监控，以证明其不超过规定的浓度，避免产生毒性。~~

采用环氧乙烷灭菌时，~~应进行泄漏试验，以确认灭菌腔室的密闭性。灭菌程序确认时，~~气体灭菌工艺的验证，应考虑物品包装材料和灭菌腔室中物品的排列

方式对灭菌气体的扩散和渗透的影响。环氧乙烷气体灭菌的生物指示剂一般采用枯草芽孢杆菌孢子（*Spores of Bacillus subtilis*）。萎缩芽孢杆菌（*Bacillus atrophaeus*）。

采用环氧乙烷灭菌时，应进行泄漏试验，以确认灭菌腔室的密闭性。灭菌后，可通过经验证的解析步骤，使残留环氧乙烷和其他易挥发性残留物消散。并对灭菌物品中的环氧乙烷残留物和反应产物进行监控，以证明其不超过规定的浓度，避免产生毒性。

五、过滤除菌法

本法系利用细菌不能通过致密具孔滤材的原理以除去指采用物理截留去除气体或液体中微生物的方法。常用于气体、热不稳定的药品溶液或原料的除菌。

除菌过滤器采用孔径分布均匀的微孔滤膜作过滤材料，微孔滤膜分亲水性和疏水性两种。滤膜材质依过滤物品的性质及过滤目的而定。药品生产中采用的除菌滤膜孔径一般不超过 $0.22\mu\text{m}$ 。过滤除菌工艺开发时，应根据待过滤介质属性及工艺目的选择合适的过滤器。除菌级过滤器的滤膜孔径选用 $0.22\mu\text{m}$ （或更小孔径或相同过滤效力）。过滤器的孔径定义来自过滤器对微生物的截留，而非平均孔径的分布系数。所以，用于最终除菌的过滤器必须选择具有截留实验证明的除菌级过滤器。过滤器对滤液的吸附选择过滤器材质时，应充分考察其与待过滤介质的兼容性。过滤器不得因与待过滤介质发生反应、释放物质或吸附作用而对过滤产品质量产生不利影响，不得影响药品质量，不得有纤维脱落，禁用含石棉的过滤器。过滤器的使用者应了解滤液过滤过程中的析出物性质、数量并评估其毒性影响。滤器和滤膜在使用前应进行洁净处理，并用高压蒸汽进行灭菌或做在线灭菌。更换品种和批次应先清洗滤器，再更换滤芯或滤膜或直接更换滤器。

过滤过程中无菌保证与过滤液体的初始生物负荷及过滤器的对数下降值 LRV（log reduction value）有关。LRV 系指规定条件下，被过滤液体过滤前的微生物数量与过滤后的微生物数量比的常用对数值。即：

$$\text{LRV} = \lg N_0 - \lg N$$

式中 N_0 为产品除菌前的微生物数量；

N 为产品除菌后的微生物数量。

LRV 用于表示过滤器的过滤除菌效率，对孔径为 $0.22\mu\text{m}$ 的过滤器而言，要

求每 1cm² 有效过滤面积的 LRV 应不小于 7。因此过滤除菌时，被过滤产品总的污染量应控制在规定的限度内。为保证过滤除菌效果，可使用两个除菌级的过滤器串连过滤，或在灌装前用过滤器进行再次过滤主过滤器前增加的除菌级过滤器即为冗余过滤器，并须保证这两级过滤器之间的无菌性。

过滤除菌法常用的挑战微生物生物指示剂为缺陷短波单胞菌 (*Brevundimonas diminuta*)。除菌级过滤器的截留试验要求是在规定条件下，在有效的表面积内每平方厘米截留缺陷短波单胞菌的能力达到 10⁷cfu。但在有些情况下，缺陷短波单胞菌不能代表最差条件，则需要考虑采用生产中发现的更小最差条件细菌进行截留试验。

在过滤除菌中，一般无法对全过程中过滤器的关键参数（滤膜孔径的大小及分布，滤膜的完整性及 LRV）进行监控。因此，在每一次过滤除菌前后均应立即进行过滤器的完整性试验，即气起泡点试验、或压力维持试验或气体扩散流量试验扩散流/前进流试验或水侵入法测试，确认滤膜在除菌过滤过程中的有效性和完整性。完整性的测试标准来自于相关细菌截留实验数据。除菌过滤器的使用时间应进行验证，一般不应超过一个工作日。过滤除菌前是否进行完整性测试可根据风险评估确定。灭菌前进行完整性测试应考虑滤芯在灭菌过程中被损坏的风险；灭菌后进行完整性测试应采取措施保证过滤器下游的无菌性。

过滤除菌法常用的生物指示剂为缺陷假单胞菌 (*Pseudomonas diminuta*)。过滤除菌前，产品的生物负载应控制在规定的限度内。过滤器使用前必须经过灭菌处理（如在线或离线蒸汽灭菌，辐射灭菌等）。在线蒸汽灭菌的设计及操作过程应关注滤芯可耐受的最高压差及温度。

通过过滤除菌法达到无菌的产品应严密监控其生产环境的洁净度，应在无菌环境下进行过滤操作。过滤除菌过程中，相关的设备、包装容器、塞子及其他物品应采用适当的方法进行灭菌，并防止再污染。

六、无菌生产工艺

无菌生产工艺系指必须在无菌控制条件下生产无菌制剂的方法，无菌分装及无菌冻干是最常见的无菌生产工艺。后者在工艺过程中须采用过滤除菌法。无菌生产工艺应严密监控其生产环境的洁净度，并应在无菌控制的环境下进行过滤操作。相关的设备、包装容器、塞子及其他物品应采用适当的方法进行灭菌，

并防止被再次污染。

无菌生产工艺过程的无菌保证应通过培养基无菌灌装模拟试验验证。在生产过程中，应严密监控生产环境的无菌空气质量、操作人员的素质、各物品的无菌性。无菌生产工艺应定期进行验证，包括对环境空气过滤系统有效性验证及培养基模拟灌装试验。

6. 汽相灭菌法

本法系指通过分布在空气中的灭菌剂杀灭微生物的方法。常用的灭菌剂包括过氧化氢(H_2O_2)、过氧乙酸($\text{CH}_3\text{CO}_3\text{CH}$)等。汽相灭菌适用于密闭空间的内表面灭菌，如隔离系统等。

汽相灭菌效果与灭菌剂量（一般是指注入量）、相对湿度和温度有关。装载方式的确认应考虑密闭空间内部物品的装载量和排列方式。微生物挑战试验用来确认灭菌效果，生物指示剂的放置位置应包括灭菌剂最难到达的位置。汽相灭菌用生物指示剂一般为嗜热脂肪地芽胞杆菌（*Geobacillus stearothermophilus*）、枯草芽胞杆菌（*Bacillus subtilis*）、生孢梭菌（*Clostridium sporogenes*）等。

日常使用中，汽相灭菌前灭菌物品应进行清洁。灭菌时应最大程度的暴露表面，确保灭菌效果。

7. 液相灭菌法

本法系指将被灭菌物品完全浸泡于灭菌剂中达到杀灭物品表面微生物的方法。具备灭菌能力的灭菌剂包括：甲醛、过氧乙酸、氢氧化钠、过氧化氢、次氯酸钠等。

灭菌剂种类的选择应考虑灭菌物品的耐受性。灭菌剂浓度、温度、pH 值、生物负载、灭菌时间、被灭菌物品表面的污染物等是影响灭菌效果的重要因素。

灭菌工艺验证时，应考虑灭菌物品表面积总和最大的装载方式，并确保灭菌剂能够接触到所有表面，如狭小孔径物品的内表面。微生物挑战试验常用的生物指示剂是萎缩芽胞杆菌（*Bacillus atrophaeus*）和枯草芽胞杆菌（*Bacillus subtilis*）。通过重复试验来验证灭菌剂浓度和灭菌时间等灭菌参数条件。灭菌后应将灭菌剂残留充分去除或灭活。

灭菌剂残留去除阶段，应采取措施防止已灭菌物品被再次污染。使用灭菌剂的全过程都应采取适当的安全措施。

征求意见稿